



TITLE:

Generation of thalamic neurons from mouse embryonic stem cells(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Shiraishi, Atsushi

CITATION:

Shiraishi, Atsushi. Generation of thalamic neurons from mouse embryonic stem cells. 京都大学, 2018, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2018-01-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20790>

RIGHT:

許諾条件により本文は2018-04-01に公開; "12 months after publication unless otherwise mandated. Any version, including final published PDF. Must link to published article on journal website." (<http://dev.biologists.org/content/rights-permissions>)

| | | | |
|--|--|-----|---------|
| 京都大学 | 博士（ 医 学 ） | 氏 名 | 白 石 敦 士 |
| 論文題目 | Generation of thalamic neurons from mouse embryonic stem cells (マウス胚性幹細胞からの視床神経の分化誘導) | | |
| (論文内容の要旨) | | | |
| <p>神経細胞の運命決定には、発生中の脳の中でのシグナル分子の局在が重要である。視床は前脳尾側部から発生するが、視床の初期発生を司る分子機序は不明であった。</p> <p>そこで本研究では視床初期発生の分子機序を明らかにするための手法として、マウス胚性幹細胞（ES 細胞）の無血清浮遊培養法（SFEBq 法）を用いた。SFEBq 法は細胞集団が自己組織化するために必要最小限のシグナル分子を見つける上で有用であり、これまで様々な脳領域の分化誘導法が確立されてきた。例えば前脳吻側部に位置する視床下部は、培地にシグナル分子を含まない条件で誘導される。また中脳の場合は培地に後方化シグナル因子であるインシュリンと FGF2 を加えることによって峽部形成体の働きをする細胞が誘導され、その細胞が分泌する FGF8 によって中脳が誘導される。しかし視床下部よりも尾側、中脳よりも吻側に位置する視床については、初期発生機序が未解明であるためにこれまで分化誘導法が確立されていなかった。</p> <p>そこで中脳や視床下部への分化を抑制することで、マウス ES 細胞から視床を含む間脳組織に分化させることを試みた。視床下部への分化を抑制するために後方化シグナル因子インシュリンを、そして中脳への分化を抑制するために FGF シグナル下流の MAPK/ERK キナーゼの阻害剤を培地に加えたところ、転写因子 Otx2 と Pax6 が共陽性となる前脳尾側部が誘導された。</p> <p>続いて誘導した前脳尾側部から視床が分化誘導されるかどうか評価するにあたり、単独で評価できる視床マーカーが存在しないことが課題であった。そこで視床の脳室帯及び外套帯の両方で発現する転写因子 Tcf7l2 に着目し、Tcf7l2 の遺伝子座に蛍光レポーターVenus をノックインした ES 細胞株を樹立した。そして Tcf7l2::Venus と他の複数の遺伝子マーカーとの共発現をマウス脳組織での発現パターンと比較することで視床分化誘導法を評価した。さらに、視床に発現するが視床の発生への寄与が不明であったシグナル分子 BMP7 が視床の分化誘導を促進することを明らかにした。</p> <p>分化誘導させた視床組織は生体内と同様の時系列で発生し、空間的にも生体内と類似の発現パターンが観察された。間脳では増殖期にある細胞が複数の前駆細胞マーカーの発現によって複数の領域に分けられる。マウス ES 細胞から分化誘導した組織でも前脳尾側部の領域化の後、投射神経への分化が始まる前の時期にこれらの前駆細胞マーカーのドメイン状の発現が頂端面近傍に認められた。この 2 日後、前駆細胞は減少して代わりに視床神経マーカーの発現が観察された。</p> | | | |

| |
|---|
| <p>さらに数日間の培養後、マウス ES 細胞から分化誘導した組織は視床投射神経特異的な遺伝子発現パターンと細胞形態を獲得した。視床投射神経特異的な遺伝子発現パターンとしては、小胞グルタミン酸トランスポーター2 や神経ペプチド VGF が神経突起上に局在していた。また視床投射神経特異的な細胞形態としては、ラットの大脳皮質片との器官共培養やラットの大脳皮質下への移植の結果、マウス ES 細胞由来神経が大脳皮質層に伸長する様子が観察された。</p> <p>これらの結果からマウス ES 細胞から視床神経を分化誘導するために必要なシグナル分子が明らかとなった。今回開発した分化誘導法を用いることで視床の発生機序のさらなる解明にも役立つことが期待される。</p> |
| <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>神経細胞の分化運命は発生中に発現するシグナル分子の局在によって決定される。しかし視床の初期発生を司る分子機序は多くが不明である。本研究では視床初期発生の分子機序を解明するためにマウス胚性幹細胞（ES 細胞）の無血清浮遊培養法（SFEBq 法）を用いた。SFEBq 法は細胞集団が自己組織化するために必要最小限のシグナル分子を調べる上で有用であり、これまで様々な脳領域の分化誘導法が確立されてきた。一方で前脳尾側部に位置する視床は、初期発生機序が未解明ということもあってこれまで分化誘導法が確立されていなかった。</p> <p>そこで前脳吻側部及び中脳への分化を抑制する方策を採ることで、マウス ES 細胞から視床を分化させることに成功した。さらに、視床の発生への寄与が不明であったシグナル分子が視床分化を促進することも明らかにした。</p> <p>分化誘導させた視床組織は生体内と同様の時系列で発生し、空間的にも生体内と類似の発現パターンが観察された。さらに数日間培養することで視床投射神経特異的な遺伝子発現パターンと細胞形態も獲得した。</p> <p>以上の研究はマウス ES 細胞から視床神経を分化誘導するために必要なシグナル分子の解明に貢献し、視床の発生機序のさらなる解明に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 9 月 29 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p> |
| 要旨公開可能日： 年 月 日 以降 |